

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5998135号
(P5998135)

(45) 発行日 平成28年9月28日 (2016. 9. 28)

(24) 登録日 平成28年9月2日 (2016. 9. 2)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 43/23 (2006. 01)

C O 7 C 43/23 C

C O 7 C 41/40 (2006. 01)

C O 7 C 43/23 A

A 6 1 K 31/122 (2006. 01)

C O 7 C 41/40

A 6 1 K 8/35 (2006. 01)

A 6 1 K 31/122

A 6 1 P 3/02 (2006. 01)

A 6 1 K 8/35

請求項の数 13 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-521617 (P2013-521617)
 (86) (22) 出願日 平成24年6月21日 (2012. 6. 21)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2012/065869
 (87) 国際公開番号 W02012/176842
 (87) 国際公開日 平成24年12月27日 (2012. 12. 27)
 審査請求日 平成27年5月1日 (2015. 5. 1)
 (31) 優先権主張番号 特願2011-141028 (P2011-141028)
 (32) 優先日 平成23年6月24日 (2011. 6. 24)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 000000941
 株式会社カネカ
 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100101904
 弁理士 島村 直己
 (72) 発明者 河内 秀夫
 兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8 株式会
 社カネカ内
 (72) 発明者 北村 志郎
 兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8 株式会
 社カネカ内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 安定性に優れた還元型補酵素Q10結晶

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

粉末エックス線 (Cu - K α) 回折において、回折角 ($2\theta \pm 0.2^\circ$) 11.5° 、 18.2° 、 19.3° 、 22.3° 、 23.0° 及び 33.3° に特徴的なピークを示す還元型補酵素Q10結晶。

【請求項2】

示差走査熱量測定 (DSC) により、5 / 分の速度で昇温した場合において、 54 ± 2 に吸熱ピークを有する、請求項1記載の還元型補酵素Q10結晶。

【請求項3】

図1に示した粉末エックス線 (Cu - K α) 回折パターンを示すことを特徴とする、請求項1又は2記載の還元型補酵素Q10結晶。

【請求項4】

錠剤法 (KBr法) による赤外分光分析において、 $862 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 及び $881 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ に特徴的な吸収ピークを示すことを特徴とする、請求項1又は2記載の還元型補酵素Q10結晶。

【請求項5】

図2に示したKBr法による赤外分光スペクトルを示すことを特徴とする、請求項4記載の還元型補酵素Q10結晶。

【請求項6】

請求項1～5いずれか1項記載の還元型補酵素Q10結晶を含有する、還元型補酵素Q

10

20

10 結晶性固体。

【請求項7】

還元型補酵素Q10を、脂肪族炭化水素を溶媒として冷却晶析した後に、その後該溶媒中で析出した結晶を25以上で24時間以上保持することを特徴とする、還元型補酵素Q10結晶又は還元型補酵素Q10結晶性固体の製造法。

【請求項8】

脂肪族炭化水素が、ヘキサン、ヘプタン及びオクタンからなる群より選択される少なくとも1種であることを特徴とする、請求項7記載の製造法。

【請求項9】

還元型補酵素Q10を結晶化させる際に、請求項1～5のいずれか1項記載の還元型補酵素Q10結晶を種晶として添加することを特徴とする、還元型補酵素Q10結晶又は還元型補酵素Q10結晶性固体の製造法。

10

【請求項10】

請求項1～5のいずれか1項記載の還元型補酵素Q10結晶を含有する、食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、動物薬、飲料、飼料、化粧品、医薬品、治療薬、予防薬又はペットフード。

【請求項11】

賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、酸化防止剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、溶解補助剤、安定化剤、粘度調整剤、油脂、界面活性剤及び還元型補酵素Q10以外の活性成分からなる群より選択される少なくとも1つと、請求項1～5のいずれか1項記載の還元型補酵素Q10結晶とを含有する組成物。

20

【請求項12】

請求項6記載の還元型補酵素Q10結晶性固体を含有する、食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、動物薬、飲料、飼料、化粧品、医薬品、治療薬、予防薬又はペットフード。

【請求項13】

賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、酸化防止剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、溶解補助剤、安定化剤、粘度調整剤、油脂、界面活性剤及び還元型補酵素Q10以外の活性成分からなる群より選択される少なくとも1つと、請求項6記載の還元型補酵素Q10結晶性固体とを含有する組成物。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、安定性に優れた還元型補酵素Q10結晶、該結晶を含有する還元型補酵素Q10結晶性固体、並びにそれらの製造方法、それらの使用及びそれらを含有する組成物に関する。還元型補酵素Q10は、酸化型補酵素Q10に比べて高い経口吸収性を示し、優れた食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、動物薬、飲料、飼料、化粧品、医薬品、治療薬、予防薬又はペットフード等として有用な化合物である。

【背景技術】

【0002】

40

補酵素Qは、細菌から哺乳動物まで広く生体に分布する必須成分であり、生体内の細胞中におけるミトコンドリアの電子伝達系構成成分として知られている。補酵素Qは、ミトコンドリア内で酸化と還元を繰り返すことで、電子伝達系における伝達成分としての機能を担っているほか、還元型補酵素Qは抗酸化作用を持つことが知られている。ヒトでは側鎖がイソプレノイドの繰り返し構造を10個持つ補酵素Q10が主成分であり、生体内においては、通常、40～90%程度が還元型として存在している。補酵素Qの生理的作用としては、ミトコンドリア賦活作用によるエネルギー生産の活性化、心機能の活性化、細胞膜の安定化効果及び抗酸化作用による細胞の保護効果等が挙げられている。

【0003】

現在製造・販売されている補酵素Q10の多くは酸化型補酵素Q10であるが、近年で

50

は、酸化型補酵素Q 10に比べて高い経口吸収性を示す還元型補酵素Q 10も市場に登場し、用いられるようになってきている。

【0004】

還元型補酵素Q 10を得る一般的な方法は特許文献1に開示されている。さらに、還元型補酵素Q 10を結晶として得る方法についても、いくつかの方法が知られている。例えば、特許文献2では、還元型補酵素Q 10を、アルコール溶液及び/又はケトン溶液中において晶出させ、結晶を製造している。特許文献3では、還元型補酵素Q 10の高濃度液相を貧溶媒中に添加することで結晶化を行っている。

【0005】

また、特許文献4には、還元型補酵素Q 10を油脂に溶解させた後、冷却することにより、通常の還元型補酵素Q 10結晶とはエックス線回折パターンを異にし、安定性に優れた結晶を取得できることが開示されている。

【0006】

還元型補酵素Q 10は、通常、分子酸素存在下で容易に酸化され、酸化型補酵素Q 10となる性質を有することが知られている。これに対し、還元型補酵素Q 10を安定化させる方法として、例えば特許文献5では還元型補酵素Q 10をアスコルビン酸類又はクエン酸類と接触・共存させる方法が開示されている。また、従来、還元型補酵素Q 10の結晶は、非常に帯電しやすいという性質を有している。

【0007】

ところで、一般に、有機化合物又は無機化合物を問わず、多くの化合物において結晶構造を異にする複数の結晶形が存在することが報告されており、これを結晶多形という。結晶多形において存在する複数の結晶形は、エックス線回折や赤外分光分析などの分析においてそれぞれ異なるパターンを示すだけでなく、融点や溶解度等の物性もそれぞれ異なっている。一般に、定められた条件においてエネルギー的に安定な結晶形ほど融点は高く、溶解度は低くなる傾向を示し、通常最も融点が高く、溶解度の低い結晶形が安定形と呼ばれる。安定形以外の結晶形の場合、例えば晶析や乾燥又は粉碎などの操作中に安定形への転移が起こる可能性がある。これは物質がエネルギー的に安定な状態に変化しようとするごく自然な現象であるが、そのために得られる結晶の物性が変化してしまうため、結晶や該結晶を有効成分とする製剤に品質上の問題が生じる可能性がある。安定形の結晶ではそのような転移が起こらないだけでなく、上述のように融点が高いため、結晶を乾燥させる際により高い温度で乾燥することが可能となり、また、溶解度が低いため、晶析の際により多くの結晶が取得できるなど、製造時の効率が高まるという利点がある。そのような理由から、結晶多形が存在する化合物を特に医薬品用途などで利用する場合には、安定形などの最適な結晶形を選択する事が重要とされている。

【0008】

さらに、結晶形が異なることにより、帯電性が異なることも報告されている。結晶が帯電性を有していると、製造時に機器に付着する等して製造時の効率が悪くなるだけでなく、粉塵爆発や設備・作業者の汚染など安全上の問題も生じる。結晶多形を有する化合物の場合、最適な結晶多形の選択は、上記問題への有効な対処法の一つになり得る。例えば特許文献6では、1,2-ジヒドロピリジン化合物の新たな結晶形(IV型)が他の結晶形に比べて低い帯電性を有することが報告されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特開平10-109933号公報

【特許文献2】特開2003-006409号公報

【特許文献3】特開2003-089669号公報

【特許文献4】WO2005/033054号公報

【特許文献5】WO2003/032967号公報

【特許文献6】WO2007/072868号公報

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

上述したように、多くの化合物には結晶多形が存在することがわかっているものの、還元型補酵素Q10に関しては、結晶多形の存在が明確に確認されたとの報告はなく、従来得られている結晶形が唯一のものであると考えられている。従って、物性の向上には併用成分との組み合わせや製剤化の方法を工夫することが研究されていた。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、上記に鑑み鋭意検討した結果、従来公知の還元型補酵素Q10結晶とは結晶構造が異なる新たな結晶形が存在すること、すなわち還元型補酵素Q10に結晶多形が存在することを初めて見だし、さらにはこの新しい結晶形は、従来公知の結晶と比べてより安定な結晶形であることを確認し、本発明を完成するに至った。

【0012】

即ち、本発明は、示差走査熱量測定(DSC)により、5 / 分の速度で昇温した場合において、 54 ± 2 に吸熱ピークを有する還元型補酵素Q10結晶に関する。

【0013】

また、本発明は、粉末エックス線(Cu-K α)回折において、回折角($2\theta \pm 0.2^\circ$) 11.5° 、 18.2° 、 19.3° 、 22.3° 、 23.0° 及び 33.3° に特徴的なピークを示す還元型補酵素Q10の結晶に関する。

【0014】

また、本発明は、錠剤法(KBr法)による赤外分光分析において、 $862 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 及び $881 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ に特徴的な吸収ピークを示す還元型補酵素Q10の結晶に関する。

【0015】

さらに本発明は、上記還元型補酵素Q10結晶を含有する還元型補酵素Q10結晶性固体と、それらの製造法にも関する。

【0016】

さらに本発明は、上記還元型補酵素Q10結晶の使用、並びに、還元型補酵素Q10結晶及び還元型補酵素Q10結晶性固体を含有する組成物にも関する。

【0017】

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2011-141028号の明細書及び / 又は図面に記載される内容を包含する。

【発明の効果】

【0018】

本発明で初めて見いだされた還元型補酵素Q10の結晶形は、従来公知の還元型補酵素Q10結晶より非常に安定で、その他の物理特性にも優れているため、非常に酸化されやすく使用に制限があった還元型補酵素Q10の従来の欠点が解消されるだけでなく、還元型補酵素Q10の新たな用途及び利用方法をも提供できる。また、本発明の還元型補酵素Q10結晶及びそれを含有する結晶性固体は、安定形で優れた物性を有しているだけでなく、製造効率も高いという点でも優れている。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】本発明に係る実施例1の還元型補酵素Q10結晶の粉末エックス線回折図である。

【図2】本発明に係る実施例1の還元型補酵素Q10結晶の赤外分光スペクトル図である。

【図3】従来公知の比較例1の還元型補酵素Q10結晶の粉末エックス線回折図である。

【図4】従来公知の比較例1の還元型補酵素Q10結晶の赤外分光スペクトル図である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

以下、本発明を詳細に説明する。なお、本明細書における「還元型補酵素Q10」とは、還元型補酵素Q10を主成分とする限り、その一部に酸化型補酵素Q10を含んでいてもよい。なお、ここで主成分とは、例えば60重量%以上、通常70重量%以上、好ましくは80重量%以上、より好ましくは90重量%以上、さらに好ましくは95重量%以上、特に好ましくは98重量%以上含まれていることを意味する。

【0021】

本発明の還元型補酵素Q10結晶は、以下に述べるように、その物性及び結晶構造が従来公知の還元型補酵素Q10結晶とは明らかに異なる、新規な結晶形を含有する還元型補酵素Q10結晶である。

10

【0022】

本発明の還元型補酵素Q10結晶は、示差走査熱量測定(DSC)により、昇温速度5/分において測定をおこなった場合、 54 ± 2 に結晶の融解を示す吸熱ピークを有する。この値は、従来公知の還元型補酵素Q10の結晶が示す同条件(昇温速度5/分)での吸熱ピークの温度(50 ± 1)より明らかに高い。また、昇温速度1/分において同様に測定をおこなった場合、本発明の還元型補酵素Q10結晶の吸熱温度のピークは 52 ± 2 となる。なお、従来公知の還元型補酵素Q10結晶は同条件(昇温速度1/分)において 48 ± 1 に吸熱ピークを示す。

【0023】

さらに本発明の還元型補酵素Q10結晶は、温度25におけるn-ヘキサンへの溶解度が高くとも15重量%以下、好ましくは12重量%以下、より好ましくは10重量%以下という物性を示す。これは従来公知の還元型補酵素Q10結晶が示す溶解度(30重量%以上)より明らかに低い。また、ヘキサン以外の溶媒への溶解度についても、同様の傾向がみられ、例えば本発明の還元型補酵素Q10結晶の温度30におけるエタノールへの溶解度は高くとも4重量%未満、好ましくは3.5重量%以下、より好ましくは3重量%以下である。これは従来公知の還元型補酵素Q10結晶が示す溶解度(4重量%以上)と比べて低い。

20

【0024】

このように、本発明の還元型補酵素Q10結晶は、従来公知の還元型補酵素Q10結晶より融点が高くかつ溶解度が低いという性状を示していることから、従来公知の還元型補酵素Q10結晶とは結晶構造の異なる結晶多形、すなわち新規の還元型補酵素Q10結晶多形(あるいは該結晶多形を含有する結晶)であるだけでなく、安定形の結晶であるといえる。安定形の本発明の還元型補酵素Q10結晶は、熱に対し安定であり、また溶解度が低いことから晶析時の収率向上も期待できる。

30

【0025】

また、本発明の還元型補酵素Q10結晶は、下記粉末エックス線回折パターン及び/又はIR吸収パターンでも特徴づけられる。

【0026】

具体的には、本発明の還元型補酵素Q10結晶は、Cu-K α 線をエックス線源に用いた粉末エックス線回折(XRD)において、回折角($2\theta \pm 0.2^\circ$) 11.5° 、 18.2° 、 19.3° 、 22.3° 、 23.0° 及び 33.3° に特徴的なピークを示す。特に、 18.2° 、 19.3° 及び 22.3° に特徴的な強い回折ピークを示し、さらには 18.2° と 22.3° の強い回折ピークが特徴的である。なお、粉末エックス線回折ピークの強度は結晶の配向の影響を受けて変化することが知られており、測定によっては特徴的なピークの強度が一部あるいは全部で十分でないことがあるが、これはXRD分析においてよく見られる現象であり、本発明の範疇である。本発明の還元型補酵素Q10結晶の粉末エックス線回折測定結果の例を図1に示す。図1に示したXRD回折パターンは、上記の特徴的なピークが観測される点で従来公知の結晶の回折パターン(特許文献4など)とは全く異なっており、図1に示す本発明の還元型補酵素Q10結晶が、新規な還元型補酵素Q10の結晶多形であることは明らかである。

40

50

【 0 0 2 7 】

あるいは、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶は、錠剤法 (K B r 法) による赤外分光 (I R) 分析において、 $862 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ と $881 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 付近に特徴的な吸収ピークを示す。上記の $862 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 及び $881 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 付近のピークは、同程度の強度の 2 つのピークからなる特徴的な吸収ピークである。従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶はこの位置に 2 つのピークの吸収ピークを有さないことから、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶が従来公知の結晶形と異なる新規な還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形を有していることは明確に示される。本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶の赤外分光分析測定結果の例を図 2 に示す。

【 0 0 2 8 】

本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶においては、上記 D S C 吸熱ピーク、X R D 回折パターン及び / 又は I R 吸収パターンを有する新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形を含有するものであれば、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶が共存していてもかまわない。また、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶を含有する結晶性固体であれば、その他の還元型補酵素 Q 1 0 の固体状態が共存するか否かにかかわらず、本発明の範囲内である。なお、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶中に含まれる新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形は、従来公知の結晶形に比べて安定形であることから、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体中に該新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形が少量でも存在していれば、時間経過により、すべて新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形へと転移する事もあり得る。

【 0 0 2 9 】

そのような観点から、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体における、上記新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の含有量は特に限定されないが、例えば 0 . 1 重量 % 以上、通常 1 重量 % 以上、好ましくは 1 0 重量 % 以上、より好ましくは 2 0 重量 % 以上、さらに好ましくは 3 0 重量 % 以上、特に好ましくは 5 0 重量 % 以上、とりわけ 7 0 重量 % 以上、なかんずく 8 5 重量 % 以上である。新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の含有量の下限值が上記の値である場合、それぞれの下限值に対応する上限値は、いうまでもなく 1 0 0 重量 % である。本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体中において、新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形と従来公知の結晶形が混合状態にあるかどうかやそれらの割合については、例えば D S C を用いて、昇温速度 1 / 分、及びサンプル量 $5 \pm 2 \text{ mg}$ において測定をおこなうことで知ることができる。この条件では、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶と新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の融解を示すそれぞれの吸熱ピークが明確に分離し、それらピークの大きさは混合比率と相関するため、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶や結晶性固体に従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶が混合している場合でも、新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の存在やその含有量を明確に測定することができる。

【 0 0 3 0 】

さらに、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶は、酸素に対して優れた安定性を示す。従来、還元型補酵素 Q 1 0 は空気中の酸素分子により容易に酸化することが知られているが、後述する実施例で示されるとおり、本発明で見出された新規還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形及びそれを主成分とする還元型補酵素 Q 1 0 結晶は、空気中において何ら酸素に対する防護策を採らない状態で、非常に高い安定性を示す。この現象は、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶、及び該結晶を含有する組成物の性質からは予測もできないものである。また、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の高い酸化安定性は、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及びその他非晶成分共存下においても発揮され、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶性固体についても、従来の知見からは考えられないほどの酸化安定性を示す。本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体の酸化安定性は、結晶中又は結晶性固体中の新規の還元型補酵素 Q 1 0 結晶多形の含有量や、保存条件によって一概に言えないが、例えば、2 5 、空気中、遮光条件下に所定期間保存後の還元型補酵素 Q 1 0 の保持率 (%) として、普通約 6 0 % 以上、好ましくは約 8 0 % 以上、更に好ましくは約 8 5 % 以上、特に好ましくは 9 0 % 以上である。なお、ここでいう保持率とは、所定期間保存後の還元型補酵素 Q 1 0 の絶対量 (あるいは結晶性固体中の濃度) / 保存前の還元型補酵素 Q 1 0 の組

成物中の絶対量（あるいは結晶性固体中の濃度）の比として求められるものである。また所定期間とは特に限定されないが、例えば１週間、好ましくは２週間、より好ましくは４週間である。

【００３１】

次に、本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶及び結晶性固体の製造方法について説明する。

【００３２】

本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶及びそれを含有する本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶性固体は、特定条件で冷却晶析とその後の処理を行うことによって製造することができる。例えば、還元型補酵素Ｑ１０を脂肪族炭化水素の溶媒中で、一定温度、好ましくは２５

以上、より好ましくは２５～７０、さらに好ましくは２５～６０の範囲で冷却晶析を行って還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体を析出させた後に、一定温度で一定時間以上、好ましくは２５以上で２４時間以上、より好ましくは２５～７０の範囲で２４時間～３年間、さらに好ましくは２５～６０の範囲で２４時間～６ヶ月間、保持することにより製造することができる。この条件においては、晶析時に従来公知の還元型補酵素Ｑ１０結晶を種晶として用いることもできるし、種晶を使用しなくともよい。晶析に使用される還元型補酵素Ｑ１０は、従来公知の方法によって得られたものを使用でき、公知の還元方法で酸化型補酵素Ｑ１０から得られた還元型補酵素Ｑ１０を含有する反応液や、公知の方法によって得られる還元型補酵素Ｑ１０の抽出液などを必要に応じて溶媒置換などを行って利用することもできるし、精製後の還元型補酵素Ｑ１０粉末や市販されている還元型補酵素Ｑ１０粉末などを脂肪族炭化水素系の溶媒に溶解させたものを使用してもよい。晶析及びその後の処理時に使用する溶媒としては脂肪族炭化水素であれば特に限定されないが、ヘキサン、ヘプタン又はオクタンが好ましく、ヘキサンが特に好ましい。晶析濃度や晶析後の保持時間は、溶媒に対する還元型補酵素Ｑ１０の溶解度等を考慮し、目的とする還元型補酵素Ｑ１０結晶あるいは結晶性固体が得られるように適宜決定できるが、例えば溶媒にｎ-ヘキサンをを用いた場合、濃度４０％の還元型補酵素Ｑ１０のヘキサン溶液を加温下で調製し、これを２５まで冷却晶析して還元型補酵素Ｑ１０結晶を析出させた後に、該温度で２４時間以上、好ましくは４８時間以上、さらに好ましくは９６時間以上、析出した還元型補酵素Ｑ１０結晶をそのまま溶媒中で保持することにより製造することができる。保持時間の上限は限定されず、目的とする還元型補酵素Ｑ１０結晶あるいは結晶性固体が得られるまで数年を要する場合もあるが、好ましくは６ヶ月以内である。該保持工程において、析出した還元型補酵素Ｑ１０結晶と溶媒の混合液を攪拌してもよいし、静置した状態でもよいが、攪拌した方が好ましい。なお、保持時間によっては従来公知の還元型補酵素Ｑ１０結晶と新規の還元型補酵素Ｑ１０結晶多形が混合した本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶や結晶性固体が得られる場合もあるし、新規の還元型補酵素Ｑ１０結晶多形のみからなる本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶が得られる場合もあるが、いずれの場合も、上述したように本発明の製造方法の範疇である。

【００３３】

また、本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶及びそれを含有する本発明の還元型補酵素Ｑ１０結晶性固体は、還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体を、溶媒などに溶解することなくそのままの状態（粉末状態）で加熱及び／又は剪断等の処理を行う（加熱／剪断工程）ことによっても製造することができる。上記の方法において、出発原料として使用される還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体の結晶多形は特に限定されない。晶析時に従来公知の還元型補酵素Ｑ１０結晶又は結晶性固体のみを用いても、特定の加熱／剪断工程を実施することにより、確実に本発明の還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体へと変換させることが可能である。

【００３４】

加熱／剪断工程において、還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体は、例えば、粉末状態で剪断される。還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体を剪断する手段としては、当該技術分野で通常の剪断装置及び反応器の組み合わせを用いることができる。例えば、還元型補酵素Ｑ１０の結晶又は結晶性固体を反応器に入れ、アンカー翼、スクリュウ翼、

ヘリカルリボン翼、広幅パドル翼、多段傾斜パドル翼若しくは三方後退翼や、その他壁面に近接して対向する面を持つ攪拌翼で攪拌するか、又は石臼状若しくは乳鉢状の装置、ボールミル若しくはビーズミル等のような剪断力を与えられるような装置を使用すればよい。

【0035】

また、本発明の還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性固体を得るためには、上記のように剪断処理するだけでなく、還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性固体を、粉末状態で、所定の温度で加熱処理してもよい。加熱処理の温度は、還元型補酵素Q10が完全に溶融してしまわない温度で且つ可能な限り高い温度であることが好ましく、具体的には、45 ~ 48 の範囲が好ましく、46 ~ 47 の範囲がより好ましい。加熱処理時の圧力は特に限定されず、還元型補酵素Q10が完全に溶融しない限り、減圧下でも加圧下でも常圧でもかまわない。加熱処理の時間は特に限定されず、処理される還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性の量及び/又は所望する変換率に基づき適宜設定すればよい。例えば、3時間以上であり、好ましくは6時間以上、より好ましくは8時間以上、さらに好ましくは12時間以上である。また、上記加熱処理と剪断処理とを組み合わせてもよい。上記の条件で加熱処理及び/又は剪断処理することにより、新規な結晶多形を有する本発明の還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性固体を得ることができる。

10

【0036】

上記の方法において、加熱/剪断工程は、還元型補酵素Q10の晶析後、固液分離された還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性固体の乾燥工程に引き続き実施することもできる。その場合、加熱/剪断工程において、晶析及び/又はその後の処理に使用した溶媒等が、還元型補酵素Q10の結晶又は結晶性固体中にわずかに残存していてもよい。

20

【0037】

また、一旦、新規の還元型補酵素Q10結晶多形あるいはそれを含有する本発明の還元型補酵素Q10結晶を製造又は入手することができれば、晶析操作をおこなう際に、該新規の還元型補酵素Q10結晶多形あるいは本発明の還元型補酵素Q10結晶を種晶として添加することにより、一般的な条件で、本発明の還元型補酵素Q10結晶又は結晶性固体を製造することもできる。この場合は、冷却晶析、貧溶媒添加晶析、濃縮晶析及び溶融晶析等のうちの少なくとも1つを用いて実施することができる。好ましい晶析方法は、冷却晶析、又は冷却晶析に他の晶析方法を組み合わせてもおこなう方法である。

30

【0038】

種晶を用いて晶析する方法の場合、晶析溶媒についても特に制約はなく、任意の溶媒を用いることができる。また、溶融晶析の場合は必ずしも溶媒を使用する必要はない。例えば晶析時に使用する溶媒としては、炭化水素類、脂肪酸エステル類、エーテル類、ニトリル類、アルコール類、ケトン類、窒素化合物類、硫黄化合物類及び水等が挙げられる。炭化水素類としては、特に制限されないが、例えば、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素及びハロゲン化炭化水素等を挙げることができる。脂肪族炭化水素としては、環状又は非環状を問わず、また、飽和又は不飽和を問わず、特に制限されないが、通常、炭素数3 ~ 20、好ましくは炭素数5 ~ 12のものが用いられる。具体例としては、例えば、プロパン、ブタン、イソブタン、ペンタン、2-メチルブタン、シクロペンタン、2-ペンテン、ヘキサン、2-メチルペンタン、2,2-ジメチルブタン、2,3-ジメチルブタン、メチルシクロペンタン、シクロヘキサン、1-ヘキセン、シクロヘキセン、ヘプタン、2-メチルヘキサン、3-メチルヘキサン、2,3-ジメチルペンタン、2,4-ジメチルペンタン、メチルシクロヘキサン、1-ヘプテン、オクタン、2,2,3-トリメチルペンタン、イソオクタン、エチルシクロヘキサン、1-オクテン、ノナン、2,2,5-トリメチルヘキサン、1-ノネン、デカン、1-デセン、p-メンタン、ウンデカン及びドデカン等を挙げることができる。芳香族炭化水素としては、特に制限されないが、通常、炭素数6 ~ 20、好ましくは炭素数6 ~ 12、より好ましくは炭素数7 ~ 10のものが用いられる。具体例としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、o-キシレン、m-キシレン、p-キシレン、エチルベンゼン、クメン、メシチレン、テトラリン、ブチルベン

40

50

ゼン、p - シメン、シクロヘキシルベンゼン、ジエチルベンゼン、ペンチルベンゼン、ジペンチルベンゼン、ドデシルベンゼン及びスチレン等を挙げることができる。

【 0 0 3 9 】

ハロゲン化炭化水素としては、環状又は非環状を問わず、また、飽和又は不飽和を問わず、特に制限されないが、非環状のものが好ましく用いられる。塩素化炭化水素又はフッ素化炭化水素がより好ましく、塩素化炭化水素がさらに好ましい。また、炭素数 1 ~ 6、好ましくは炭素数 1 ~ 4、より好ましくは炭素数 1 ~ 2 のものが用いられる。具体例としては、例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 1 - ジクロロエタン、1, 2 - ジクロロエタン、1, 1, 1 - トリクロロエタン、1, 1, 2 - トリクロロエタン、1, 1, 1, 2 - テトラクロロエタン、1, 1, 2, 2 - テトラクロロエタン、ペンタクロロエタン、ヘキサクロロエタン、1, 1 - ジクロロエチレン、1, 2 - ジクロロエチレン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、1, 2 - ジクロロプロパン、1, 2, 3 - トリクロロプロパン、クロロベンゼン及び 1, 1, 1, 2 - テトラフルオロエタン等を挙げることができる。

10

【 0 0 4 0 】

脂肪酸エステル類としては、特に制限されないが、例えば、プロピオン酸エステル、酢酸エステル及びギ酸エステル等を挙げることができる。酢酸エステル又はギ酸エステルが好ましく、酢酸エステルがより好ましい。エステル基としては、特に制限されないが、炭素数 1 ~ 8 のアルキルエステル及び炭素数 1 ~ 8 のアラルキルエステル等が挙げられ、好ましくは炭素数 1 ~ 6 のアルキルエステル、より好ましくは炭素数 1 ~ 4 のアルキルエステルである。プロピオン酸エステルとしては、例えば、プロピオン酸メチル、プロピオン酸エチル、プロピオン酸ブチル及びプロピオン酸イソペンチル等を挙げることができる。酢酸エステルとしては、例えば、酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチル、酢酸 sec - ブチル、酢酸ペンチル、酢酸イソペンチル、酢酸 sec - ヘキシル、酢酸シクロヘキシル及び酢酸ベンジル等を挙げることができる。ギ酸エステルとしては、例えば、ギ酸メチル、ギ酸エチル、ギ酸プロピル、ギ酸イソプロピル、ギ酸ブチル、ギ酸イソブチル、ギ酸 sec - ブチル及びギ酸ペンチル等を挙げることができる。

20

【 0 0 4 1 】

エーテル類としては、環状又は非環状を問わず、また、飽和又は不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。通常、炭素数 3 ~ 20、好ましくは炭素数 4 ~ 12、より好ましくは炭素数 4 ~ 8 のものが用いられる。

30

【 0 0 4 2 】

具体例としては、例えば、ジエチルエーテル、メチル tert - ブチルエーテル、ジブチルエーテル、ジイソブチルエーテル、ジペンチルエーテル、ジヘキシルエーテル、エチルビニルエーテル、ブチルビニルエーテル、アニソール、フェネトール、ブチルフェニルエーテル、メトキシトルエン、ジオキサン、フラン、2 - メチルフラン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、エチレングリコールジメチルエーテル、エチレングリコールジエチルエーテル、エチレングリコールジブチルエーテル、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル及びエチレングリコールモノブチルエーテル等を挙げることができる。

40

【 0 0 4 3 】

ニトリル類としては、環状又は非環状を問わず、また、飽和又は不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。通常、炭素数 2 ~ 20、好ましくは炭素数 2 ~ 12、より好ましくは炭素数 2 ~ 8 のものが用いられる。

【 0 0 4 4 】

具体例としては、例えば、アセトニトリル、プロピオニトリル、マロニトリル、ブチロニトリル、イソブチロニトリル、スクシノニトリル、バレロニトリル、グルタロニトリル、ヘキサニトリル、ヘプチルシアニド、オクチルシアニド、ウンデカンニトリル、ドデカンニトリル、トリデカンニトリル、ペンタデカンニトリル、ステアロニトリル、クロ

50

ロアセトニトリル、ブromoアセトニトリル、クロロプロピオニトリル、ブromoプロピオニトリル、メトキシアセトニトリル、シアノ酢酸メチル、シアノ酢酸エチル、トルニトリル、ベンゾニトリル、クロロベンゾニトリル、ブromoベンゾニトリル、シアノ安息香酸、ニトロベンゾニトリル、アニソニトリル、フタロニトリル、プロモトルニトリル、メチルシアノベンゾエート、メトキシベンゾニトリル、アセチルベンゾニトリル、ナフトニトリル、ピフェニルカルボニトリル、フェニルプロピオニトリル、フェニルブチロニトリル、メチルフェニルアセトニトリル、ジフェニルアセトニトリル、ナフチルアセトニトリル、ニトロフェニルアセトニトリル、クロロベンジルシアニド、シクロプロパンカルボニトリル、シクロヘキサンカルボニトリル、シクロヘプタンカルボニトリル、フェニルシクロヘキサンカルボニトリル及びトリルシクロヘキサンカルボニトリル等を挙げることができる。

10

【0045】

アルコール類としては、環状又は非環状を問わず、また、飽和又は不飽和を問わず、特に制限されないが、飽和のものが好ましく用いられる。例えば、1価アルコールとしては炭素数1～20のものが挙げられ、好ましくは炭素数1～12、より好ましくは炭素数1～6、さらに好ましくは炭素数1～5、特に好ましくは炭素数1～4、とりわけ好ましくは炭素数1～3のものである。最も好ましくは、炭素数2～3の1価アルコールである。また、炭素数2～5、好ましくは炭素数2～3の2価アルコール、又は炭素数3の3価アルコール等も好適に用いられる。上記のうち、炭素数1～5の1価アルコールは、水と相溶性の高いアルコールであり、水との混合溶媒として使用する場合に好適に用いられる。

1価アルコールとしては、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、イソブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、1-ペンタノール、2-ペンタノール、3-ペンタノール、2-メチル-1-ブタノール、イソペンチルアルコール、tert-ペンチルアルコール、3-メチル-2-ブタノール、ネオペンチルアルコール、1-ヘキサノール、2-メチル-1-ペンタノール、4-メチル-2-ペンタノール、2-エチル-1-ブタノール、1-ヘプタノール、2-ヘプタノール、3-ヘプタノール、1-オクタノール、2-オクタノール、2-エチル-1-ヘキサノール、1-ノナノール、1-デカノール、1-ウンデカノール、1-ドデカノール、アリルアルコール、プロパルギルアルコール、ベンジルアルコール、シクロヘキサノール、1-メチルシクロヘキサノール、2-メチルシクロヘキサノール、3-メチルシクロヘキサノール及び4-メチルシクロヘキサノール等を挙げることができる。2価アルコールとしては、例えば、1,2-エタンジオール、1,2-プロパンジオール、1,3-プロパンジオール、1,2-ブタンジオール、1,3-ブタンジオール、1,4-ブタンジオール、2,3-ブタンジオール及び1,5-ペンタンジオール等を挙げることができる。3価アルコールとしては、例えばグリセリン等を挙げることができる。

20

30

【0046】

ケトン類としては、特に制限されず、炭素数3～6のものが好適に用いられる。具体例としては、例えば、アセトン、メチルエチルケトン、メチルブチルケトン及びメチルイソブチルケトン等を挙げることができる。

【0047】

窒素化合物類としては、上述したニトリル類のほか、例えば、ニトロメタン、トリエチルアミン、ピリジン、ホルムアミド、N-メチルホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド及びN-メチルピロリドン等を挙げることができる。

40

硫黄化合物類としては、例えば、ジメチルスルホキシド及びスルホラン等を挙げることができる。

【0048】

これらの溶媒は、還元型補酵素Q10の溶解度、晶析濃度、収率、スラリー性状及び/又は結晶性状等の晶析条件を左右する条件を改善するために、それぞれの溶媒の特性に従って、好ましい割合で混合して用いることができる。

50

【 0 0 4 9 】

いずれの晶析を行う場合でも、晶析装置については従来公知のものが任意に使用でき、例えば冷却ジャケットと攪拌装置を備えた槽（ジャケット付き攪拌槽）や、外部に冷却用の熱交換器を備え、槽内の液を循環させて冷却・混合をおこなう槽（外部循環型の槽）等が使用できる。

【 0 0 5 0 】

上記方法によって得られた本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体は、必要に応じて、例えば、特許文献 2 又は 3 に記載されたような従来公知の方法により、固液分離・乾燥などの工程を経て回収される。例えば固液分離には加圧ろ過又は遠心ろ過などが使用できる。また、乾燥後の結晶性固体を必要に応じて粉碎又は分級（ふるい分け）して回収することもできる。

10

【 0 0 5 1 】

なお、上記晶析、保持、加熱／剪断及び後処理工程においては、脱酸素雰囲気下にて実施するのが好ましい。脱酸素雰囲気は、不活性ガスによる置換、減圧若しくは沸騰やこれらを組み合わせることにより達成できる。少なくとも、不活性ガスによる置換、即ち、不活性ガス雰囲気を用いるのが好適である。上記不活性ガスとしては、例えば、窒素ガス、ヘリウムガス、アルゴンガス、水素ガス及び炭酸ガス等を挙げることができ、好ましくは窒素ガスである。

【 0 0 5 2 】

本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体は、食品、栄養機能食品、特定保健用食品、栄養補助剤、栄養剤、動物薬、飲料、飼料、化粧品、医薬品、治療薬、予防薬又はペットフード等の用途に使用することができる。

20

【 0 0 5 3 】

本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及び結晶性固体は、必要に応じて、医薬・食品・飼料又は化粧品等の用途に対して、それぞれ許容される賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、酸化防止剤、着色剤、凝集防止剤、吸収促進剤、溶解補助剤、安定化剤、粘度調整剤、油脂、界面活性剤、又は還元型補酵素 Q 1 0 以外の他の活性成分などと組み合わせて、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶を含有する組成物とすることができる。尚、上記還元型補酵素 Q 1 0 以外の他の活性物質としては、例えば、アミノ酸、ビタミン、ミネラル、ポリフェノール、有機酸、糖類、ペプチド及びタンパク質等が挙げられる。

30

【 0 0 5 4 】

本発明の組成物は、そのまま使用することができるが、それをカプセル剤（ハードカプセル若しくはソフトカプセル）、錠剤若しくはコーティング剤（例えば糖衣錠）、又はシロップ若しくは飲料等の経口投与形態に更に加工して好ましく使用しうるし、クリーム、坐薬又は練り歯磨き等のための形態に更に加工しても使用しうる。特に好ましくは、カプセル剤であり、とりわけ、ソフトカプセルである。カプセル基材としては特に制限されず、牛骨、牛皮、豚皮又は魚皮等を由来とするゼラチンをはじめとして、他の基材（例えば、食品添加物として使用しうるカラギーナン若しくはアルギン酸等の海藻由来品やローカストビーンガム若しくはグアーガム等の植物種子由来品等の増粘安定剤やセルロース類を含む製造用剤）も使用しうる。

40

【 0 0 5 5 】

本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶及びそれを含有する結晶性固体は、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶より安定性に優れるため、例えば打錠時の圧力を高めたり、高粘性の液体を配合する際に、その温度を高めて流動性を改善したりすることが可能となるので、還元型補酵素 Q 1 0 を含有する製剤や組成物の製造効率を高めることもできる。

【 0 0 5 6 】

さらに、本発明の還元型補酵素 Q 1 0 結晶は帯電性も小さいため、薬さじやガラス瓶、製造装置や包装材の壁面に結晶が付着したり、あるいは計量等で結晶を取扱う際に飛散したりするようなことが、従来公知の還元型補酵素 Q 1 0 結晶よりきわめて起こりにくい。従って、製造時においても機器に付着する等の製造効率の低下が起こりにくく、粉塵爆発

50

や設備・作業者の汚染など安全上の問題も小さいという点でも優れている。

【実施例】

【0057】

以下、実施例を用いて本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

【0058】

以下に実施例をあげて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。なお、実施例中の示差走査熱量測定(DSC)、粉末エックス線回折(XRD)及び赤外分光(IR)分析の測定条件は下記の通りである。

【0059】

(DSC測定条件)

装置 : SIIナノテクノロジー製 DSC6220
 サンプル容器 : アルミ製パン&カバー(SSC000C008)
 昇温速度 : 5 /分又は1 /分
 サンプル量 : 昇温速度5 /分の場合 10 ± 5 mg
 昇温速度1 /分の場合 5 ± 2 mg

(XRD測定条件)

装置 : リガク製 MiniFlex II
 使用エックス線 : Cu-K α 線
 強度 : 30 kV, 15 mA
 角度 : 2 θ = 2 ~ 60°
 走査速度 : 2° /分
 ダイバージェンススリット(DS) : 1.25°
 スキャッタスリット(SS) : 1.25°
 レシーピングスリット(RS) : 0.3 mm

(IR測定条件)

装置 : 島津製作所製 FTIR-8400S
 分解能 : 4 cm⁻¹
 アポダイゼーション : Happ-Genzel
 積算回数 : 40回
 測定方法 : 錠剤法(KBr法)

【実施例1】

【0060】

300 mLの反応フラスコ(耐熱ガラス製)の内部を窒素置換した後、市販の還元型補酵素Q10(株式会社カネカ製、従来公知の還元型補酵素Q10結晶)40 gとノルマルヘキサン60 gを入れ、攪拌しながら40 に加温して完全に溶解させた。この溶液を10 /時間の冷却速度で25 まで冷却した後、攪拌を継続したまま25 で96時間保持し、ろ過及び乾燥(減圧乾燥、20 ~ 40)をおこなって結晶を取得した。DSCにより分析を実施した結果、5 /分の速度で昇温した場合において54.2 に融解を示す吸熱ピークが、1 /分の速度で昇温した場合において51.6 に融解を示す吸熱ピークが、それぞれ確認された。また、粉末エックス線回折による分析の結果、図1に示すように、回折角(2 θ ± 0.2°) 11.50°、18.26°、19.30°、22.30°、23.00°及び33.14°に特徴的なピークが見られた。さらにIRによる分析の結果、図2に示すように、従来公知の還元型補酵素Q10結晶とは異なり、862 ± 1 cm⁻¹と881 ± 1 cm⁻¹に特徴的な吸収ピークを有していた。以上の分析結果から、本実施例で得られた還元型補酵素Q10結晶は、従来公知の還元型補酵素Q10とは異なる結晶形であることが確認された。取得した結晶のヘキサンに対する溶解度を測定したところ、温度25 において9重量%であった。なお、取得した結晶は粉末エックス線測定の前処理として実施した乳鉢での結晶の粉碎過程において、特に帯電による付着性を示さず、ステンレス製の薬さじで結晶を採取する際にも特に問題は見られなかった。

【実施例 2】

【0061】

300 mL の反応フラスコ（耐熱ガラス製）の内部を窒素置換した後、市販の還元型補酵素 Q10（株式会社カネカ製、従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）40 g とノルマルヘキサン 60 g を入れ、撹拌しながら 40 に加温して完全に溶解させた。この溶液を 10 / 時間の冷却速度で 25 まで冷却した後、実施例 1 で取得した還元型補酵素 Q10 結晶（本発明の還元型補酵素 Q10 結晶）0.4 g を種晶として添加した。添加後 25 で 24 時間保持した後、ただちにろ過及び乾燥をおこなって結晶を取得した。DSC により分析を実施した結果、5 / 分の速度で昇温した場合において、53.9 に融解を示す吸熱ピークが見られた。また、粉末エックス線回折による分析の結果、得られた結晶は実施例 1 と同じ、本発明の還元型補酵素 Q10 結晶の回折パターンを示した。

10

【実施例 3】

【0062】

300 mL の反応フラスコ（耐熱ガラス製）の内部を窒素置換した後、市販の還元型補酵素 Q10（株式会社カネカ製、従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）4 g とエタノール 96 g を入れ、撹拌しながら 40 に加温して完全に溶解させた。この溶液を 10 / 時間の冷却速度で 30 まで冷却した後、実施例 1 で取得した還元型補酵素 Q10 結晶（本発明の還元型補酵素 Q10 結晶）0.4 g を種晶として添加した。添加後 30 で 24 時間保持した後、ただちにろ過及び乾燥をおこなって結晶を取得した。DSC により分析を実施した結果、5 / 分の速度で昇温した場合において、52.0 に融解を示す吸熱ピークが見られた。また、粉末エックス線回折による分析の結果、得られた結晶は実施例 1 と同じ、本発明の還元型補酵素 Q10 結晶の回折パターンを示した。

20

【比較例 1】

【0063】

300 mL の反応フラスコ（耐熱ガラス製）の内部を窒素置換した後、市販の還元型補酵素 Q10（株式会社カネカ製、従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）40 g とノルマルヘキサン 60 g を入れ、撹拌しながら 40 に加温して完全に溶解させた。この溶液を 10 / 時間の冷却速度で 25 まで冷却した後、最初に使用したのと同じ市販の還元型補酵素 Q10（従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）0.4 g を種晶として添加した。添加後 25 で 1 時間保持した後、引き続き 1 / 時間の冷却速度で 10 まで冷却し、ただちにろ過及び乾燥（減圧乾燥、20 ~ 40 ）をおこなって結晶を取得した。DSC により分析を実施した結果、5 / 分の速度で昇温した場合において 50.4 に融解を示す吸熱ピークが、1 / 分の速度で昇温した場合において 48.1 に融解を示す吸熱ピークが、それぞれ確認された。また、得られた結晶の粉末エックス線回折による分析の結果を図 3 に、IR 分析結果を図 4 に示す。

30

【0064】

取得した結晶のヘキサンに対する溶解度を測定したところ、温度 25 において 36.5 重量%であった。なお、取得した結晶は粉末エックス線測定の前処理として実施した乳鉢での結晶の粉碎過程において、帯電による激しい付着性を示し、またステンレス製の薬さじで結晶を採取する際、周囲に結晶が激しく飛散する様子が見られた。

40

【実施例 4】

【0065】

実施例 1 及び比較例 1 で取得した還元型補酵素 Q10 の結晶をそれぞれガラスビンにいれ、フタをせずに開放状態で 25 、遮光下にて保存して還元型補酵素 Q10 と酸化型補酵素 Q10 の重量比を下記 HPLC 分析により求めた。結果を表 1 に示す。

【0066】

（HPLC 分析条件）

カラム：YMC - Pack（ワイ・エム・シー製）、150 mm（長さ）、4.6 mm（内径）

移動相：メタノール / ヘキサン = 9 / 1（v / v）

50

検出波長：290 nm

流速：1 ml / min

【表 1】

還元型補酵素 Q10/酸化型補酵素 Q10 の重量比		
経過日数	実施例 1 で得られた結晶	比較例 1 で得られた結晶
開始前	98.8/ 1.2	99.5/ 0.5
3 日後	98.6/ 1.4	97.7/ 2.3
7 日後	97.8/ 2.2	84.0/16.0
14 日後	95.7/ 4.3	50.2/49.8
28 日後	93.1/ 6.9	28.2/71.8

10

【0067】

上記結果の通り、本発明の還元型補酵素 Q10 は特に酸化に対する防護策をとらなくとも、非常に安定で酸化されにくいことが確認された。

【実施例 5】

【0068】

500 mL のステンレス製反応器（耐圧テクノ製、内径：54 mm、深さ：225 mm）に、市販の還元型補酵素 Q10（カネカ・ニュートリエンツ製、従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）50 g を入れ、攪拌下、真空ポンプで減圧（圧力：4 kPa）しながら、反応容器内の温度を 46 ~ 47 に加温した。攪拌にはアンカー翼（翼長：50 mm）を使用し、攪拌回転数は 300 rpm とした。この操作を 55 時間継続した後、粉末エックス線回折により分析をおこなった。その結果、図 1 に示すように、回折角（ $2\theta \pm 0.2^\circ$ ）11.44°、18.14°、19.10°、22.22°、23.08° 及び 33.24° に特徴的なピークが見られ、従来公知の還元型補酵素 Q10 とは異なる結晶形であることが確認された。

20

【比較例 2】

【0069】

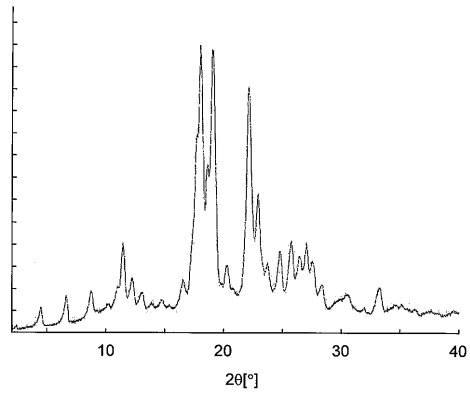
真空オーブン（アズワン製 VO-400）に、市販の還元型補酵素 Q10（株式会社カネカ製、従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶）50 g を入れ、静置状態で、真空ポンプで減圧しながら、真空オーブン内の温度を 42 に加温した。この操作を 98 時間継続した後、粉末エックス線回折により分析をおこなった。その結果、回折ピークのパターンは従来公知の還元型補酵素 Q10 結晶と同一であり、変化はみられなかった。

30

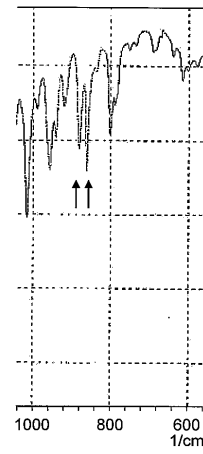
【0070】

本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

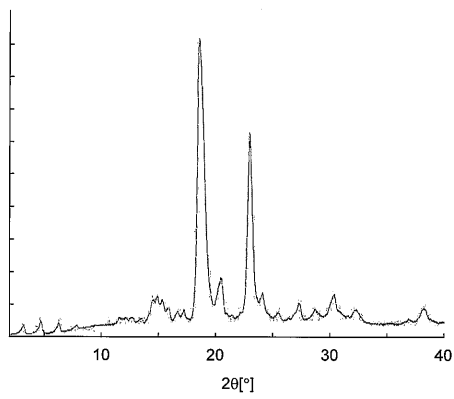
【図 1】



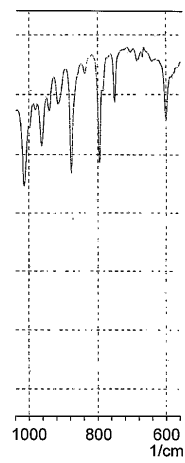
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 3/02

(72)発明者 上田 恭義
兵庫県高砂市高砂町宮前町 1 - 8 株式会社力ネ力内

審査官 前田 憲彦

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 3 / 0 0 6 4 0 8 (W O , A 1)
特表 2 0 0 6 - 5 1 3 2 7 4 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 3 / 0 0 8 3 6 3 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 0 3 / 0 0 6 4 1 1 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 0 3 / 0 0 6 4 0 9 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
C 0 7 C 4 3 / 0 0
A 6 1 K 8 / 0 0
A 6 1 K 3 1 / 0 0
A 6 1 P 3 / 0 0
C 0 7 C 4 1 / 0 0
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)